Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr.med. H. Franke

IQ SERUMPROTEINE BEI GESUNDEN HB_s-AG-TRÄGERN IM VERGLEICH ZU EINEM NORMALKOLLEKTIV

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Gudrun Mader
aus
Arnstadt

Würzburg, den 24. Juni 1980

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr.med. H. Franke

10 SERUMPROTEINE BEI GESUNDEN HB_s-AG-TRÄGERN IM VERGLEICH ZU EINEM NORMALKOLLEKTIV

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Gudrun Mader
aus
Arnstadt

Würzburg, den 24. Juni 1980

Referent: Prof. Dr.med. H. Franke
Korreferent: Priv.Doz. Dr.med. D. Weißhaar
Dekan: Prof. Dr.med. K.H. Wulf

Tag der mündlichen Prüfung: 22. Juli 1980

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität Würzburg

Meinen Eltern gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. Einleitung und Fragestellung	1
2. Literaturübersicht	2
2.1. Hepatitis B-Antigen	2
2.2. Serumproteine	9
3. Material und Methoden	18
3.1. Probandengut	18
3.2. Klasseneinteilung	19
3.3. Methoden	19
3.4. Statistik	25
4. Ergebnisse	26
4.1. Qualitätskontrolle	26
4.2. Serumproteinveränderungen nach Einfrieren bzw. Lagerung bei + 4° C über 3-4 Monate	28
4.3. Mittelwerte der Serumproteine bei HB_s-Ag positiven und -negativen Probanden	33
4.4. Mittelwerte der Serumproteine bei Probanden mit HB_s-Ag $\leq$ 12 µg/ml und HB_s-Ag $>$ 12 µg/ml	38
5. Diskussion	41
6. Zusammenfassung	46
7. Literaturverzeichnis	47

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543520_0134

1. EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG

Die immunologischen und radioimmunologischen Untersuchungen der Serumproteine gewinnen in der klinischen Chemie für die Diagnostik und Beurteilung des Krankheitsverlaufs zunehmend an Bedeutung. Besonders auf dem Gebiet der Lebererkrankungen spielen die Elektrophorese und die quantitative Bestimmung der Serumproteine eine große Rolle.

Durch den Arbeitskreis um BLUMBERG wurde 1964 ein kausaler Zusammenhang zwischen dem Australia-Antigen (jetzt HB_s-Ag genannt) und der Posttransfusionshepatitis nachgewiesen. Trotz weltweiter Forschung auf diesem Gebiet und trotz wesentlicher Fortschritte gerade in den letzten Jahren steht eine endgültige Klärung der Virushepatitis B noch aus. Unter anderem sind in der Literatur keinerlei Angaben darüber zu finden, ob bei HB_s-Ag-Trägern, in deren Leberzellen mit wechselnder Häufigkeit das HB_s-Ag-Protein nachweisbar ist, eine Veränderung von Serumproteinen, die ja ebenfalls in der Leber synthetisiert werden, erkennbar ist.

Wir haben uns daher in dieser Arbeit die Frage gestellt, ob bei HB_s-Ag positiven Personen Abweichungen der Werte von IgA, IgG, IgM und sieben weiteren Serumproteinen im Vergleich zu einem HB_s-Ag negativen Kollektiv nachweisbar sind.
Weiterhin untersuchten wir, ob in Abhängigkeit von der Menge des HB_s-Ag Unterschiede bei den Serumproteinen vorliegen.

2. LITERATURÜBERSICHT

2.1. Hepatitis B-Antigen

2.1.1. Entdeckung des Hepatitis B-Antigen

Bei Untersuchungen von Serum-Lipoprotein-Polymorphismen entdeckten BLUMBERG und Mitarbeiter 1963 (9) zufällig im Serum eines polytransfundierten Hämophilie-Patienten einen (wie wir jetzt wissen - Hepatitis B-) Antikörper, der nicht zu den Lipoproteinen gehörte und mit einem unbekannten Antigen aus dem Serum eines australischen Eingeborenen präzipitierte. Bei weiteren Nachforschungen wurde dieses sogenannte Australia-Antigen in geringer Häufigkeit im Serum der nordamerikanischen Bevölkerung, oft jedoch bei Bewohnern von Ozeanien, Fernostasien und Australien nachgewiesen. Auch bei Leukämie-Patienten (11, 13, 61), bei Patienten mit knotiger Lepra (12), bei Polytransfundierten und Thalassämiekranken (10), sowie bei Patienten mit Down-Syndrom (11, 57, 7, 62) und Virushepatitis (11, 13, 7) wurde weitaus häufiger als in der Normalbevölkerung ein positives Australia-Antigen gefunden.

1968 wurde dann der Schlüssel zum Verständnis des Australia-Antigens gefunden: OKOCHI (50) sowie OKOCHI und MURAKAMI (51) zeigten, daß nach Transfusion von Australia-Antigen positivem Blut beim Empfänger entweder eine Australia-Antigen positive Hepatitis oder Antikörper gegen Australia-Antigen auftreten können. Unabhängig davon identifizierte PRINCE (56, 57) ein in der Inkubationszeit einer Serumhepatitis entdecktes SH-Antigen als identisch mit BLUMBERGs Australia-Antigen. Damit war die Beziehung zwischen Australia-Antigen und Virushepatitis B eindeutig (36, 14).

2.1.2. Eigenschaften des Hepatitis B-Antigen

1968 beschreiben BAYER et al. (7), 1969 ALMEIDA und Mitarbeiter (3, 4) sowie ZUCKERMAN (66) im Serum von HB_s-Ag positiven Personen zwei unterschiedliche Strukturen, die mit Kaninchen-Anti-HB_s-Ag-Serum Immunkomplexe bilden, und die sich im Serum von Normalpersonen nachweisen lassen:

1. Kleine sphärische Partikel mit einem Durchmesser von ca. 20 nm und
2. Tubuläre Partikel mit einem Durchmesser von ca. 20 nm und einer Länge bis zu mehreren hundert nm.

DANE et al. (18) finden 1970 eine weitere HB-Antigen-Form:

3. Große sphärische Partikel mit einem Durchmesser von 42 nm - die sogenannten Dane-Partikel - die aus einem inneren, etwa 27 nm im Durchmesser großen Kern (core) und einer äußeren Hülle (coat oder surface) zu bestehen scheinen.

Diese drei unterschiedlich strukturierten Partikelarten bilden Immunkomplexe mit Anti-HB_s-Ag-Serum, d.h. sie besitzen die gleiche determinante Gruppe HB_s-Ag. Elektronenmikroskopisch lassen sich in Leberzellkernen von HB_s-Ag-Trägern (16, 26), Patienten mit Hepatitis B (26, 27, 45) oder lymphoproliferativen Erkrankungen - bei positivem HB_s-Ag- (48) virusähnliche Partikel von ca. 25-27 nm nachweisen, die mit dem Core von Dane-Partikeln im Serum identisch sind. Immunfluoreszenzoptische Studien kamen zu denselben Resultaten (15, 17, 41).

Zwar konnte trotz intensiver Bemühungen nur von zwei Arbeitsgruppen in HB_s-Ag positiven Präparaten Ribonukleinsäure - und auch nur in geringer Menge von 2,5 - 5 % - nachgewiesen werden (28, 29), da jedoch bekannt ist, daß die Replikation der meisten Viren im Zytoplasma stattfindet, gewinnt die von DANE et al. (18) und ALMEIDA et al. (2) geäußerte Hypothese, daß das Dane-Partikel das komplette Hepatitis-Virus (HBV) sei, weiter an Wahrscheinlichkeit:
Das Kapsel (Surface-) Protein des Virus wird in Form der sphärischen und tubulären 22 nm HB_s-Ag-Partikel im Überschuß im endoplasmatischen Retikulum synthetisiert (55); der Kern des Virus (core) ist die HB_c-Ag positive 26-27 nm Struktur im Leberzellkern (15, 27). Wenig geklärt ist bis jetzt wie sich Kern und Hülle zu einem Virus verbinden.

MAGNIUS und ESPMARK (38) fanden 1972 im Serum von HB_s-Ag positiven Personen ein neues Antigen-Antikörpersystem, das e-System (e-Antigen und anti-e). Das e-Antigen konnte nur in Anwesenheit des HB_s-Ag nachgewiesen werden, es ist aber nicht mit dem HB_s-Ag identisch (37). NIELSEN et al. (46) und FAY (22) fanden das e-Antigen bei 10 % der Patienten mit akuter Virushepatitis, während es bei HB_s-Ag positiven chronischen Hepatitiden in 41 % auftrat. Die Persistenz des e-Antigens wird als Hinweis auf eine bevorstehende Chronifizierung der Hepatitis B angesehen (21, 47).
Ebenso wichtig erscheint die Beobachtung, daß eine Beziehung zwischen dem e-System und der Infektiosität von HB_s-Ag positivem Serum besteht.
OKADA und seine Mitarbeiter (49) stellten fest, daß bei allen Kindern von symptomfreien e-positiven HB_s-Ag-Trägerinnen das HB_s-Ag gefunden wurde.

Im Gegensatz dazu konnten bei den Kindern von symptomfreien HB_s-Ag-Müttern mit anti-e im Serum weder das HB_s-Ag noch Dane-Partikel nachgewiesen werden.
Auf Grund dieser Tatsache könnte das anti-e als Prophylaxe eingesetzt werden, um die mütterliche Übertragung des HBV zu vermeiden, was besonders in Ländern mit einer hohen symptomfreien Trägerzahl wie Japan und Taiwan wichtig wäre.

2.1.3. HB_s-Ag-Subtypen

1969 wurde erstmals von LEVENE und BLUMBERG (35) auf immunologisch nachweisbare Subtypen des HB_s-Ag hingewiesen. Danach wird durch Arbeiten von KIM (30), LE BOUVIER (34), MILLMAN et al. (40), SCHOBER (58), BANCROFT (5) und andere folgendes über HB_s-Subtypen bekannt:
Neben einer allen HB_s-Ag positiven Strukturen gemeinsamen Determinante "a" kommen auf denselben Partikeln alternativ die subtypenspezifischen Antigenspezifitäten "d" und "y" vor; dabei wird die Konstellation "ad" mit D und "ay" mit Y bezeichnet. Der Subtyp D dominiert bei chronischen Hepatitiden, während bei akuten Hepatitiden D und Y annähernd gleich verteilt sind.
Weiterhin beschrieben BANCROFT et al. (5) die Antigendeterminanten "w" und "r", die sich ebenfalls ausschließen. In Amerika, Europa und Afrika kommt hauptsächlich "w" vor, während in Asien und Ozeanien "r" dominiert.
Somit können vier HB_s-Ag-Subtypen unterschieden werden: adw, adr, ayw, ayr.

2.1.4. Bestimmung des HB_s-Ag

a) Immunodiffusion nach Ouchterlony

Hierbei werden Antigen und Antikörper getrennt in eingestanzte Löcher einer Agarplatte gegeben. Nach radialer, passiver Diffusion kommt es beim Aufeinandertreffen korrespondierender Reaktionspartner zu einer Präzipitation.
Die Immunodiffusion ist die unempfindlichste HB_s-Ag-Nachweismethode, auch können die entstehenden Präzipitationslinien erst nach 2-3 Tagen abgelesen werden. Vorteilhaft ist die einfache Bedienung und der sparsame Anti-HB_s-Ag Verbrauch.

b) Überwanderungselektrophorese nach PESENDORFER

Für das Screening von Blutspendern wurde bis zur Mitte der 70er Jahre diese Methode durchgeführt. Sie wurde von PESENDORFER, KRASSNITZKI und WEWALKA (54) für die HB_s-Ag-Testung eingeführt.
Das Prinzip der Überwanderungselektrophorese besteht darin, daß die im Serum befindlichen HB_s-Antigene (bzw. Antikörper) in Agarose zur Anode (bzw. Kathode) wandern und durch entsprechende Anordnung der HB_s-Antiseren (bzw. HB_s-Antigene) sichtbar gemacht werden. Dieser Nachweis dauert 1-3 Stunden und hat außerdem den Vorteil, daß HB_s-Ag-Seren, die Immunkomplexe enthalten und deshalb nicht durch die KBR erfaßt werden, nachgewiesen werden können.

c) Komplementbindungsreaktion (KBR)

Die KBR ist 100-fach empfindlicher als die Immunodiffusion (59) durch exakte Titration des Antigens

gegen ein Standard-HB_s-Serum (bzw. des Antikörpers gegen ein Standard-anti-HB_s-Serum). Nachteilig wirkt sich bei dieser Methode der relativ große Verbrauch von Antiserum aus. Auch können in der KBR HB_s-Ag-Seren, die Immunkomplexe enthalten, nicht erfaßt werden.

d) Passive Hämagglutination

Der Hämagglutinationstest wurde von VYAS und SHULMAN (63) entwickelt und weist eine 1200fach größere Empfindlichkeit als die Immunodiffusion auf. Bei diesem Test werden lyophilisierte, mit HB_s-Antikörpern beladene Schaferythrocyten mit dem zu untersuchenden Serum gut durchgemischt. Nach 1-3 Stunden ist das Resultat ablesbar: ein negativer Befund ist durch eine Sedimentation charakterisiert, im positiven Fall bleibt diese aus. Der Hämagglutinationstest ist zwar einfach, schnell durchführbar und sehr empfindlich, es besteht aber die Gefahr einer unspezifisch positiven Reaktion bei Patienten mit infektiöser Mononukleose sowie bei Rheumatikern (60). Solche falsch positiven Ergebnisse lassen sich aber durch vorhergehende Absorption mit Schaferythrocyten, die mit IgG vom Schaf beladen sind, vermeiden (60).

e) Radio-Immun-Assay (RIA)

Prinzip siehe 3.2.1.
Der RIA ist 1200-4000 mal empfindlicher als der Agar-Gel-Diffusionstest und etwa 200 mal sensibler als die KBR (59).

Ohne serologische Kontrollen ist der Prozentsatz der falsch positiven Resultate recht hoch, die Spezifität eines Befundes kann aber durch vorherige Absorption des vermuteten HB_s-Ag mit einem nicht markierten HB_s-Antiserum kontrolliert werden. Ein Teil der bei Einfachbestimmung falsch positiver Befunde kann durch Mehrfachbestimmung mit Mittelwertsberechnung als falsch positiv erkannt werden.

f) Enzym-Immun-Assay

Nach dem Prinzip des RIA arbeitet der von der Firma ORGANON entwickelte Enzym-Immun-Assay HEPANOSTICA, dessen Empfindlichkeit der des RIA entspricht. Dabei werden in Mikrotiterplattenvertiefungen, die mit HB_s-Antikörpern vom Schaf beschichtet sind, die zu untersuchenden Seren pipettiert. Nach einer Inkubationszeit von 2 Stunden bei 37^{o} C (bzw. von 16 Stunden bei Raumtemperatur) wird die Platte 3mal gewaschen. Nun werden Antikörper gegen HB_s-Ag, die mit einem Enzym markiert sind, dazugegeben; nach erfolgter Inkubation wird wiederum gewaschen. Gibt man jetzt ein Substrat mit einem Farbkomplex dazu, so färbt sich im Fall eines positiven Ergebnisses (d.h., wenn das Serum HB_s-Ag enthielt) der gebildete AK-AG-AK+Enzym-Komplex (Sandwich-Prinzip) an.

2.1.5. Bestimmung der HB_s-Ag-Subtypen

Der Nachweis der HB_s-Ag-Subtypen kann anhand von Spornbildungen im Immundiffusionstest durchgeführt werden. Eine Subtypenanalyse ist auch in der Überwanderungselektrophorese möglich, wenn man über monospezifische, gegen die einzelnen Subtypendeterminaten gerichtete Antiseren verfügt.

2.2. Serumproteine

2.2.1. Bestimmungsmethoden

Die erste Beobachtung einer Präzipitationsreaktion und deren richtige Interpretation als Immunreaktion hat KRAUS im Jahre 1897 beschrieben (31). Seither wurde dieses Phänomen zunächst im freien Medium, d.h. durch Mischen von Antigen-Antikörper-Lösungen im Reagenzglas, als eines der wichtigsten immunologischen Reaktionsprodukte in der bakteriologischen Immunologie zum Antikörpernachweis ausgewertet.

Einen wesentlichen Fortschritt brachte die Entwicklung von Immunreaktionen in einem festen Medium mit sich. BECHHOLD (8) beschäftigte sich mit der Diffusion zweier nicht gemischter Reaktionspartner im Gelatinegel. Der Vorteil dieser Methode lag darin, daß sie eine gleichzeitige Analyse mehrerer Antigen-Antikörper-Systeme unabhängig voneinander durch freie Diffusion ermöglichte.

Um jedoch eine spezifische qualitative und quantitative Aussage über Plasmaproteine machen zu können, mußten zunächst monospezifische Antiseren entwickelt werden, die nur mit einem entsprechenden Antigen, in diesem Fall Plasma- (bzw. Serum-) Protein, reagieren. Eine quantitative Aussage ermöglicht die einfache lineare Immundiffusion nach OUDIN (53). Bei dieser Methode wird antiserumhaltiges Gel in einem Reagenzglas mit einer Antigenlösung überschichtet. Ein an der Grenzfläche entstehender Präzipitatring wandert je nach Antigenkonzentration mehr oder weniger weit in die Gelzone.

Im Gegensatz zu dieser Methode ist die einfache, zweidimensionale Immundiffusion dadurch gekennzeichnet, daß ein in gelöster Form vorliegender Reaktionspartner von einer Position aus in verschiedene Richtungen - bei punktförmiger Auftragung konzentrisch - in das agargebundene, immunologisch korrespondierende Reagenz hineindiffundiert. Bei dieser einfachen radialen Immundiffusion nach MANCINI, CARBONARA und HEREMANS (39) kommt es zur Ausbildung von Präzipitatzylindern, deren Durchmesser der Menge des Antigens - bei konstanter Antikörperkonzentration - direkt proportional ist. Im allgemeinen ist die Diffusion nach 48-72 Stunden abgeschlossen (sog. Endpunkt). Durch die Endpunktmethode wird gewährleistet, daß auch in höheren Konzentrationsbereichen die Linearität zwischen dem Quadrat des Ringdurchmessers und dem Proteingehalt gewahrt bleibt. Die Berechnung der Antigenkonzentration erfolgt durch Bezug auf ein Standardserum, das bestimmte Mengen an entsprechenden Serumproteinen enthält.

Unabhängig zu MANCINI et al. entwickelten FAHEY und MC KELVEY (20) ein Verfahren, bei dem sie die Präzipitationsdurchmesser schon nach 12-16 Stunden ablasen. Dabei ergab sich eine lineare Reaktion zwischen dem Durchmesser und dem Logarithmus der Antigenkonzentration. Diese Methode kann jedoch nur in einem begrenzten Konzentrationsbereich angewandt werden.

Unter den qualitativen immunologischen Bestimmungsmethoden nimmt die zweidimensionale, doppelte Immundiffusion, die 1949 von OUCHTERLONY (52) erstmals beschrieben wurde, einen wesentlichen Platz ein. Dabei werden Antigen und Antikörper getrennt in eingestanzte Startlöcher einer Agarplatte gegeben.

Nach radialer Diffusion der Reaktionspartner kommt es beim Aufeinandertreffen korrespondierender Reaktanten zu einer Präzipitation. Mit dieser Methode können totale, partielle oder gar keine Identität zwischen Antigen und Antikörper nachgewiesen werden.

Bei der von GRABAR und WILLIAMS (24) entwickelten Technik der Immunelektrophorese handelt es sich um die Kombination von Elektrophorese eines Proteingemisches in einem gepufferten Agargel mit nachfolgender Immundiffusion der getrennten Komponenten gegen ein senkrecht zur Wanderungsstrecke der Proteine aufgetragenes, spezifisches Antiserum. Bei Antigen-Antikörper-Kontakt kommt es zur Ausbildung von Präzipitatbögen oder -linien. Auch mit dieser Methode lassen sich lediglich qualitative Aussagen über Serumproteine treffen.

Eine Variante der Immunelektrophorese ist die von LAURELL (32) entwickelte zweidimensionale Immunelektrophorese, die eine empfindliche und schnelle Methode zur quantitativen Bestimmung von Serumproteinen darstellt. Dabei erfolgt in der ersten Phase die einfache elektrophoretische Trennung eines Proteingemisches, in der zweiten Phase die elektrophoretische Abwanderung der getrennten Komponenten in ein antikörperhaltiges Agarosegel. Nach der ersten Phase muß die Glasplatte rechtwinklig gedreht und das antikörperhaltige Gel angegossen werden. Die nach 1-3 Stunden auftretenden Präzipitate stellen eine Art spitz zulaufender Gausscher Kurven ("peaks") dar, deren Maxima in direkter Beziehung zur Konzentration der entsprechenden Proteinfraktionen stehen.

2.2.2. Physiologische Bedeutung der Serumproteine

Schon bevor eine qualitative und quantitative Bestimmung der einzelnen Serumproteine durchgeführt werden konnte, wurde auf Grund der Löslichkeit, des Molekulargewichts und der Elektrophorese in Albumine und Globuline unterschieden.
Die Albumine werden im Ergastoplasma der Leberzellen synthetisiert, sie regulieren das Plasmavolumen und den onkotischen Druck, haben Vehikelfunktion für Ionen, Wasser, Bilirubin, Urobilinogen und Fettsäuren, ferner speichern sie Aminosäuren, aber auch Proteine wie IgA und IgG. Mit 52-62 % stellen sie den größten Anteil am Gesamteiweiß dar. Vermehrt sind die Albumine bei perniziöser Anämie und Ikterus; eine Verminderung tritt auf bei Infektionskrankheiten, schweren Leberparenchymschäden, bei Nephritiden und bei malignen Tumoren.
Die Funktion der Globuline liegt im Transport von Lipiden, Enzymen und Hormonen. In ihnen ist die unspezifische Resistenz des Organismus begründet. Elektrophoretisch werden sie in $alpha_1$-, $alpha_2$-, beta- und gamma-Globuline aufgetrennt. Durch die qualitativen und quantitativen Bestimmungsmethoden konnten die Proteine einzeln charakterisiert werden (6).

Die Immunglobuline gehören zu den gamma-Globulinen; sie stellen Produkte sogenannter immunologisch kompetenter Zellen wie Plasmazellen und Lymphozyten dar. Sie haben Antikörperfunktion. Das Molekulargewicht des IgA und IgG liegt bei 160 000, das des IgM bei 1 000 000 (67).

Bei pathologischen Prozessen kommt es zunächst durch primäre Immunisierungsvorgänge zu einem Anstieg des IgM-Spiegels. Bei der nachfolgenden raschen Vermehrung des IgA und der etwas verzögerten Erhöhung der IgG-Konzentration im Serum kommt es wieder zu einer Abnahme des IgM (42).
Eine pathologische Verminderung der Immunglobuline findet man beim Antikörpermangelsyndrom (67) und beim nephrotischen Syndrom (23 a), eine Vermehrung tritt vor allem bei chronischen Infektionskrankheiten, bei Leberparenchymerkrankungen (23 a, 25), Autoaggressionskrankheiten und malignen Systemerkrankungen (23 a) auf. Neben der diagnostischen Bedeutung haben die Immunglobuline auch Eingang in die Therapie gefunden. Während die gamma-Globulin-Präparate zunächst nur IgG enthielten, wurden inzwischen auch mit Kombinationspräparaten von IgG mit IgM oder IgG mit IgA gute Erfolge erzielt.

Das zur beta-Globulin-Fraktion gehörige Transferrin hat ein Molekulargewicht von 90 000 und einen Peptidgehalt von 95 % (67). Es hat die Aufgabe der Eisenbindung und des Eisentransports. Elektrophoretisch lassen sich 15 verschiedene, genetisch definierbare Transferrin-Typen differenzieren (23 b), deren Hauptgruppen mit B_o, B_1, C, D_o, D_1, D_2 und D_3 bezeichnet werden. Eine Erhöhung des Transferrins deutet auf einen Eisenmangel hin, ebenso findet man erhöhte Werte bei Schwangerschaft und Östrogenmedikation (23 a). Vermindert ist das Transferrin bei Leberzirrhose, Nephrose, Myokardinfarkt und postoperativ (23 a), ferner bei primär chronischer Polyarthritis sowie beim Bronchial- und Magenkarzinom (43).

Ebenfalls zur Gruppe der beta-Globuline gehört das $\beta_{1A/C}$-Globulin. Es entspricht dem Komplementfaktor C 3 und wird in der Leber gebildet. Das β_{1A}-Globulin geht durch einen Alterungsprozess aus dem β_{1C}-Globulin hervor (44), so daß man nach Art seiner elektrophoretischen Position drei verschiedene Formen des $\beta_{1A/C}$-Globulins unterscheiden kann: im frisch entnommenen Serum und Plasma das β_{1C}-Globulin, im gealterten Serum und Plasma sowie nach Inaktivierung das β_{1A}-Globulin und als doppelbogiges Präzipitat im frischen Serum und Plasma das $\beta_{1A/C}$-Globulin.
Das Komplementsystem ist bei der Bildung des Antigen-Antikörper-Komplexes im Organismus beteiligt. Es hat ferner eine wichtige Funktion bei der Komplementbindungsreaktion, die dem Nachweis von Antikörpern im Patientenserum dient. Eine Hypokomplementämie stellt einen Hinweis auf aktive Immunvorgänge im Organismus dar und kann - wie auch bei anderen Serumproteinen - durch Eiweißausscheidung bei Niereninsuffizienz vorliegen (1). Bei der Glomerulonephritis liegen diese beiden pathologischen Vorgänge gleichzeitig vor. Neben der Eiweißausscheidung liegt hier eine Immunreaktion vor, die sich an den Glomerula abspielt, bei der das Komplement beteiligt ist. Eine Verminderung des $\beta_{1A/C}$-Globulins findet man weiterhin bei Autoaggressionskrankheiten - wie dem Lupus erythematodes - und bei schweren Leberparenchymerkrankungen (23 a).

Das α_2-Makroglobulin stellt mit einem Molekulargewicht von 820 000 und einem Peptidgehalt von 92 % (67) den Hauptanteil der alpha$_2$-Fraktion. Seine Aufgabe ist die Transportfunktion für Hormone und biogene Amine (23 a) sowie die Bindung von Trypsin, Chymotrypsin, Plasmin und Thrombin.

WILDING et al. (64) konnten zeigen, daß durch die Bindung von Trypsin und Chymotrypsin an das α_2-Makroglobulin 85-90 % der proteolytischen Aktivität verloren gehen, daß dagegen 75 % ihrer esterasespaltenden Fähigkeit erhalten bleiben. Klinisch findet sich das α_2-Makroglobulin angereichert in der Nachphase eines Entzündungssyndroms, bei allergisch-hyperergischen Prozessen, bei Hepatitis, beim nephrotischen Syndrom sowie bei malignen Prozessen (23 a). Ebenso lassen sich erhöhte Werte während der Schwangerschaft und bei Östrogenmedikation nachweisen.
Vermindert ist das α_2-Makroglobulin vor allem im Spätstadium von Leberparenchymerkrankungen, insbesondere der Leberzirrhose (23 a).

Das der alpha$_2$-Globulin-Gruppe zuzuordnende Coeruloplasmin steht im Dienst des Kupferstoffwechsels. 96 % des Kupfers sind stabil an das Coeruloplasmin gebunden, die restlichen 4 % locker an Albumin. Das Molekulargewicht liegt bei 160 000, der Peptidgehalt bei 89 %. Der Kupfer-Protein-Komplex besitzt darüber hinaus Oxidaseaktivität (23 a).
Coeruloplasmin findet sich vermehrt bei akuten Entzündungen, insbesondere bei der akuten Hepatitis, bei malignen Tumoren und -Systemerkrankungen sowie während der Schwangerschaft und bei Östrogenmedikation. Vermindert ist das Coeruloplasmin bei der Wilsonschen Krankheit und im Endstadium einer schweren Leberparenchymschädigung wie der Leberzirrhose (23 a).

Das gleichfalls in der alpha$_2$-Globulin-Fraktion wandernde Haptoglobin gliedert sich in mehr als drei genetisch determinierte Phänotypen, von denen das Hp_{1-1}, das Hp_{2-1} und das Hp_{2-2} die einfach bestimmbaren sind.

Diese Hp-Typen-Differenzierung erlangt unter Verwendung von spezifischen Antiseren in der Gerichtsmedizin große Bedeutung. Das Haptoglobin ist ein Glykoproteid mit einem Molekulargewicht von 100 000, einem Peptidgehalt von 81 % und einem Kohlenhydratanteil von 15-20 % (67). Seine Funktion besteht darin, mit Hämoglobin irreversible Komplexe zu bilden, die gleichzeitig Peroxidase-Aktivität besitzen. Der Normalbereich des Haptoglobins streut sehr stark, was auf seine genetische Heterogenität zurückzuführen ist. Ein Anstieg der Serumkonzentration ist bei akuten Entzündungs- und Nekroseprozessen, nach Traumen, postoperativ sowie bei zerfallenden Tumoren zu verzeichnen (23 a).
Haptoglobin findet sich vermindert im Serum im Spätstadium einer primär chronisch verlaufenden Systemerkrankung vom Typ der Kollagenosen, ferner im Spätstadium eines Leberparenchymschadens, insbesondere der Leberzirrhose, und bei hämolytischen Prozessen (23a).

Zu den alpha$_1$-Globulinen gehört das α_1-Antitrypsin, ein Glykoproteid mit einem Kohlenhydratanteil von 12,4 % und einem Molekulargewicht von 45 000. Seinen Namen verdankt es seiner Fähigkeit, Trypsin sowie Chymotrypsin zu hemmen (23 a).
Klinisch findet sich das α_1-Antitrypsin erhöht in den meisten Fällen eines akuten Entzündungssyndroms, z.B. bei Infektionskrankheiten, akuten Lungenaffektionen, bei akuter Hepatitis, nach einem Myocardinfarkt sowie bei akuten Schüben chronisch progredient verlaufender Prozesse vom Typ der Kollagenosen (23 a). Es gehört deshalb der Gruppe der "Akute-Phase-Proteine" an, zu denen man im übrigen das C-reaktive Protein, das Coeruloplasmin, das Haptoglobin und das saure α_1-Glykoprotein rechnet.

Das saure α_1-Glykoprotein hat ein Molekulargewicht von 44 100 und einen Kohlenhydratanteil von 41,4 %.
Als "Akute-Phase-Protein" findet man es erhöht vor allem bei akuten Entzündungen und akuten Phasen chronisch progredient verlaufender Erkrankungen, z.B. bei rheumatoider Polyarthritis, im übrigen bei malignen Tumoren und -Systemerkrankungen.
Erniedrigt ist es bei schweren Leberparenchymschäden, besonders bei der Leberzirrhose (23 a).

3. MATERIAL UND METHODEN

3.1. Probandengut

Unsere Untersuchungen wurden durchgeführt mit den Seren von 121 HB_s-Ag positiven Blutspendern des Blutspendedienstes des Bayerischen Roten Kreuzes, Institut Würzburg. Bei 102 Personen dieses Kollektivs waren in der Med. Poliklinik Würzburg Leberblindpunktionen vorgenommen worden; dabei waren außer bei 6 Probanden, die das histologische Bild einer leichten chronisch persistierenden Hepatitis boten, nur geringe bis mäßige unspezifische, nicht entzündliche Veränderungen oder normales Lebergewebe gefunden worden, so daß dieses Kollektiv weitgehend als "gesunde" HB_s-Ag-Träger zu bezeichnen ist.

Als Vergleichskollektiv hatten wir eine Gruppe von 101 regelmäßig spendenden Blutspendern, bei denen im RIA kein HB_s-Ag nachweisbar war.

In beiden Kollektiven befanden sich keine Blutspender,

1. die Medikamente einnahmen, die auf eine chronische Erkrankung schließen lassen,
2. die in den letzten drei Monaten eine Erkrankung durchgemacht hatten,
3. die in der anamnestischen Befragung eine Gelbsucht oder sonstige Erkrankungen der Leber und Gallenblase, des Magen-Darm-Traktes sowie eine andere schwere Erkrankung angaben.

Das Untersuchungsmaterial lag in eingefrorenem Zustand vor. Die einzelnen Serumproben waren unterschiedlich lang bei -20° C aufbewahrt worden. Die Lagerungsdauer lag zwischen einigen Tagen und 5 Monaten.

3.2. Klasseneinteilung

Die Gesamtprobandenzahl wurde in folgende Kollektive eingeteilt (n = Anzahl der Probanden)

1. HB_s-Ag positive Blutspender (n = 121)
   a) männlich (n = 100)
   b) weiblich (n = 21)
2. HB_s-Ag negative Blutspender (n = 101)
   a) männlich (n = 78)
   b) weiblich (n = 23)
3. Personen mit
   a) HB_s-Ag $\leq$ 12 µg/ml (n = 41)
   b) HB_s-Ag $>$ 12 µg/ml (n = 43)

3.3. Methoden

3.3.1. Bestimmung des HB_s-Ag

Das HB_s-Ag bestimmten wir mit dem Radio-Immun-Assay. Wir verwendeten den AUSRIA II-125-Test der Firma Abbott. Dabei werden Kunststoffträger, die mit HB_s-Antikörper vom Meerschweinchen beladen sind, mit dem zu untersuchenden Serum inkubiert. Vorhandenes Antigen bindet sich an den Antikörper. Wird jetzt dem Testansatz ein mit Jod-125-markierter menschlicher, gegen HB_s-Antigen gerichteter Antikörper zugesetzt, bildet sich an der Oberfläche des Kunststoffträgers ein Antikörper-Antigen-Antikörper-Jod-125-Komplex aus.
Durch die Messung der Radioaktivität bestimmten wir dann den Gehalt der Serumprobe an HB_s-Ag.

3.3.2. Messung der Proteine

Nach der Methode der radialen Immundiffusion wurden folgende Serumproteine bestimmt: IgA, IgG, IgM, Transferrin, $\beta_{1A/C}$-Globulin, Coeruloplasmin, Haptoglobin, α_2-Makroglobulin, saures α_1-Glykoprotein, α_1-Antitrypsin. Dabei läßt man in einer Antikörper-haltigen Agargelschicht gelöste Antigen-Moleküle von einem zylinderförmig eingestanzten Startloch aus radial diffundieren. Es bilden sich Präzipitatzylinder aus, deren Durchmesser der Menge des Antigens - bei konstanter Antikörper-Konzentration - direkt proportional ist.

Im allgemeinen ist die Diffusion nach 48-72 Stunden abgeschlossen (sog. Endpunkt). Als Bezugssystem für die Berechnung der Ag-Konzentration dient ein Standardserum, das festgesetzte Mengen an entsprechendem Protein enthält.
Durch die Endpunktmethode wird gewährleistet, daß auch in höheren Konzentrationsbereichen die Linearität zwischen dem Quadrat des Ringdurchmessers und dem Proteingehalt gewahrt bleibt.

3.3.2.1. Herstellung des Agarosegels

Das Gel stellten wir aus 1 % Agarose (Behringwerke AG, Marburg, Batch No F 5204) unter Zusatz von 0,1 % Natriumazid (Merck-Schuchardt) her. Als Gelpuffer verwandten wir Veronalpuffer mit einem pH von 8,6 und der Ionenstärke 0,02, den wir folgendermaßen ansetzten:

4,12 g Veronal-Natrium (5,5-Diäthyl-barbitursäure-Natriumsalz
0,8 g Veronal (5,5-Diäthylbarbitursäure)
ad 1000 ml aqua dest.

3.3.2.2. Serumverdünnungen, AK-Mengen und Auftragen des Gels

Die von uns untersuchten Probandenseren verdünnten wir für die Proteinbestimmungen mit 0,9 % NaCl-Lösung wie folgt:

(1)	IgM, Coeruloplasmin $\beta_{1A/C}$-Globulin	1:5
(2)	IgA, saures α_1-Glykoprotein α_2-Makroglobulin	1:10
(3)	Transferrin, Haptoglobin α_1-Antitrypsin	1:20
(4)	IgG	1:100

Diese Verdünnungen wurden mit einem Probe-Reagenz-Dosierer Nr. 5231 der Firma Eppendorf Hamburg hergestellt.
Auf gereinigte, im Handel erhältliche Glasplatten (11 x 11 x 0,2 cm) trugen wir 10 ml Gel (Temperatur ca. 55° C) auf, das - entsprechend der Serumproteinbestimmung - folgende Antikörpermengen (Antiseren der Fa. Medac, Hamburg) pro 10 ml enthielt:

(1)	IgA, IgG, saures α_1-Glykoprotein α_2-Makroglobulin, Haptoglobin Coeruloplasmin, $\beta_{1A/C}$-Globulin	62,5 ul
(2)	IgM, Transferrin	50 ul
(3)	α_1-Antitrypsin	125 ul.

Zur möglichst gleichmäßigen Verteilung des Gels wurden die Platten beim Auftragen auf einen aus Plexiglas selbst gebauten Nivelliertisch gelegt, der mittels Wasserwaage horizontal ausgerichtet wurde. Nach Erkalten des Gels stanzten wir 100 Löcher (d = 1 mm) im Abstand von 1 cm zueinander in den Agar.

In 78 dieser Antigenreservoire füllten wir anschließend mit einer Mikroliterspritze der Firma Hamilton genau 1 µl Probandenserum ein. Dabei wurden HB_s-Ag positive und -negative Probanden in zufälliger Reihenfolge angeordnet, um eventuelle methodische Fehler zu vermeiden. 2 der verbleibenden Zylinder benutzten wir, um die Präzision von Tag zu Tag zu ermitteln (siehe 4.1.1.). Dazu wurde ein gepooltes Mischserum von 20 Blutspendern einpipettiert.

10 weitere Stanzzylinder wurden von uns verwendet, um Serumproteinveränderungen nach Einfrieren bzw. Lagerung bei + 4° C über mehrere Monate zu beobachten. Als Untersuchungsmaterial dienten uns dabei Seren von 5 Normalpersonen, die in jeweils 10 Eppendorf-Reagiergefäße gefüllt wurden. 5 Gefäße von jeder Person wurden bei -20° C eingefroren, die 5 anderen bei + 4° C im Kühlschrank gelagert.
Am 1. Tag nach Versuchsbeginn erfolgte die Bestimmung der Ausgangswerte für alle 10 Serumproteine der fünf Probanden bei + 4° und bei -20°.
Drei bzw. vier weitere Untersuchungen führten wir - unterschiedlich für die einzelnen Serumproteine - im Abstand von 1 bis max. 20 Wochen nach Versuchsbeginn durch.

Die restlichen 10 Stanzzylinder verwendeten wir zur Erstellung einer Eichkurve und zur Ermittlung des Linearitätsbereiches der einzelnen Serumproteine.
Dazu benutzten wir folgende Standard-Seren, die festgelegte Mengen der einzelnen Serumproteine enthalten:

1) Standard-Human-Serum, Behringwerke AG,
Batch No : 975
2) Protein-Standard-Plasma, Behringwerke AG,
Batch No : 1274.

Von den Standardseren stellten wir 5 verschiedene Verdünnungen her und füllten diese jeweils zwei Mal in die 10 diagonal verlaufenden Stanzzylinder (siehe Abb. 1):

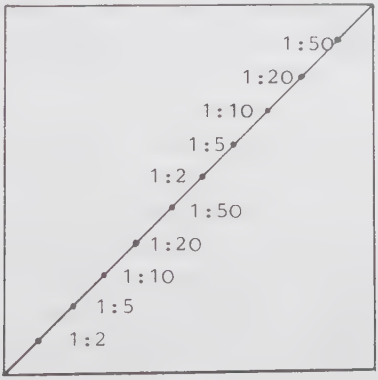


Abb. 1: Anordnung der Stanzzylinder zur Erstellung einer Eichkurve.
Verdünnungsstufen wie bei IgA

Durch diese diagonale Anordnung erreichten wir, daß jeweils einmal die höchste Verdünnung und einmal die niedrigste Verdünnung am Rand der Immundiffusionsplatte lag. Damit konnten methodische Fehler vermieden werden.

3.3.2.3. Diffusion; Waschen und Färben der Immunpräzipitate

Zur Diffusion legten wir die beschickten Platten in horizontal ausgerichtete feuchte Kammern, wo sie 3 Tage bei Raumtemperatur verblieben.
Nach erfolgter Diffusion wässerten wir die Platten 30 Minuten in einer 0,9 % NaCl-Lösung. Anschließend wurden sie mit angefeuchtetem Filterpapier, Zellstoff und einer Glasplatte bedeckt, die mit einem 2 kg-Gewicht beschwert wurde.

Durch das 15-minütige Abpressen des Gels wurden Restproteine aus dem Agar herausgelöst und von der Zellstoffschicht aufgesaugt.
Nach vorsichtigem Abziehen des Filterpapiers trockneten wir die Platten mit einem Föhn.
Anschließend wurden die gut getrockneten Platten in eine Färbelösung nachfolgender Vorschrift gebracht:

Coomassie Brilliant Blue R (Searle Diagnostic, High Wycombe, Bucks Engl.)	2,5 g
Äthylalkohol 96 %	225 ml
Eisessig	50 ml
aqua dest.	225 ml.

Nach einer Färbezeit von 5 Minuten wurden die Immunpräzipitate durch Einbringen der Platten in eine Entfärbelösung folgender Zusammensetzung sichtbar:

Äthylalkohol 96 %	125 ml
Eisessig	50 ml
aqua dest.	225 ml.

Diese Lösung kann durch Filtrieren über Aktivkohle regeneriert werden.
Zum Abschluß wurden die Platten wieder mit einem Föhn getrocknet.

3.3.2.4. Auswertung

Zur Bestimmung der Präzipitatdurchmesser verwandten wir eine 10-fach vergrößernde Meßlupe mit einer Meßskala von 0,1 mm Graduierung.
Der Durchmesser jedes Präzipitatringes wurde dabei in zwei aufeinander senkrecht stehenden Ebenen gemessen. Der Mittelwert galt dann als der Immunpräzipitatdurchmesser.

Zur Bestimmung der Serumproteingehalte in den Probandenseren erstellten wir mit den oben beschriebenen Standard-Seren (siehe 3.3.2.2.) in 5 verschiedenen Verdünnungen eine Eichkurve. Mit dem Rechner der Firma Hewlett Packard (Hewlett Packard Calculator 9810 A) wurden die ermittelten Durchmesser über eine Regressionsgerade der Standardmessungen auf mg/dl umgerechnet.

3.4. Statistik

Die ermittelten Daten jedes Probanden wurden auf dezimalkodierte Lochkarten übertragen und mit dem Statistikroutineprogramm auf einer Telefunken TR 440 im Rechenzentrum der Universität Würzburg für die einzelnen Klassen und Proteine folgende Werte bestimmt:

- arithmetischer Mittelwert
- Standardabweichung
- Prüfung der Normalverteilung
- Prüfung der Signifikanz (U-Test)
- Korrelationen.

Weiterhin wurde innerhalb der verschiedenen Parameter geprüft, ob zwischen den einzelnen Klassen statistisch signifikante Unterschiede vorliegen oder nicht.
Von den signifikanten Unterschieden wurden Histogramme erstellt.

4. ERGEBNISSE

4.1. Qualitätskontrolle

4.1.1. Präzision von Tag zu Tag

Die nachfolgende Tabelle 1 zeigt die Präzision von Tag zu Tag für die von uns untersuchten 10 Serumproteine an 5 verschiedenen Tagen.

Serumprotein	$\bar{x}$	s	VK
IgA	243,6	8,56	3,52
IgG	1368	72,43	5,30
IgM	204	12,79	6,27
Transferrin	294,4	28,15	9,56
Coeruloplasmin	61,7	2,28	3,70
$\beta_{1A/C}$-Globulin	89,4	7,54	8,43
Haptoglobin	170,8	11,01	6,45
α_2-Makroglobulin	246,8	22,86	9,26
saures α_1-Glykoprotein	91,4	5,94	6,50
α_1-Antitrypsin	276,6	17,08	6,18

Tabelle 1: Präzision von Tag zu Tag (n = 5)
$\bar{x}$ = Mittelwert der Serumproteinkonzentrationen in mg/dl (gepooltes Serum von 20 Blutspendern)
s = Standardabweichungen
VK = Variationskoeffizient für die von uns untersuchten Proteine

4.1.2. Linearität

Mit Hilfe von Standardseren in 5 verschiedenen Verdünnungen konnten wir für jedes der 10 Serumproteine eine Eichkurve erstellen (siehe 3.3.2.2.).

Die nachfolgende Abbildung zeigt als Beispiel eine Eichkurve für IgM:

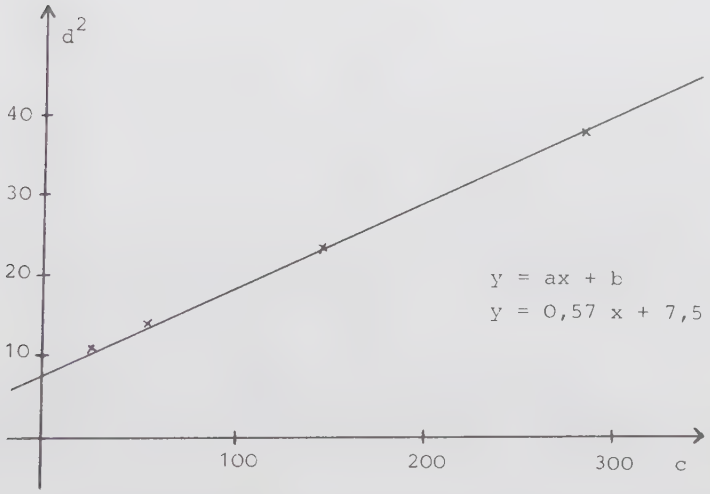


Abb. 2: Eichkurve für IgM
c = Serumkonzentration in mg/dl
d^2 = quadrierter Durchmesser der Präzipitatringe in mm^2.

An Hand unserer Eichkurven konnten wir feststellen, daß bei den einzelnen Serumproteinen für folgende Bereiche Linearität vorlag (Tab. 2):

Serumprotein	Linearität
IgA	50 - 500
IgG	250 - 2500
IgM	50 - 300
Transferrin	70 - 650
Coeruloplasmin	10 - 100
$\beta_{1A/C}$-Globulin	30 - 180
Haptoglobin	40 - 360
α_2-Makroglobulin	90 - 600
saures α_1-Glykoprotein	40 - 200
α_1-Antitrypsin	50 - 450

Tab. 2: Linearitätsbereiche in mg/dl für die untersuchten Serumproteine (untere und obere Grenze).

4.2. Serumproteinveränderungen nach Einfrieren bzw. Lagerung bei + 4° C über 3-4 Monate

Die Tabellen 3-5 zeigen die Ergebnisse der einzelnen immunologisch bestimmten Serumproteine von 5 Normalpersonen (bezeichnet mit 1 - 5) nach unterschiedlich langer Lagerung bei + 4° C (a) und -20° C (b).

Tabelle 6 nennt die Mittelwerte für die Serumproteine der 5 Probanden, die max. 20 Wochen bei + 4° (bzw. -20°) gelagert wurden.

	Lagerungs-dauer in Wochen	1a	1b	2a	2b	3a	3b	4a	4b	5a	5b
IgA	0	141	147	243	248	227	229	128	129	31	31
	1	132	139	243	248	193	201	111	119	25	27
	3	127	143	246	253	196	193	107	106	30	30
	12	114	146	247	254	207	226	114	128	27	25
IgM	0	238	232	236	236	297	293	54	55	29	28
	1	200	225	236	238	262	274	38	48	27	27
	2	197	232	222	232	253	275	38	50	21	20
	20	201	232	211	233	268	269	49	56	27	27
IgG	0	1334	1341	1334	1338	1059	1067	1257	1257	481	478
	1	1342	1369	1259	1338	988	1046	1159	1178	447	469
	2	1341	1379	1279	1349	985	1058	1158	1158	411	474
	3	1357	1357	1337	1355	1024	1062	1162	1257	398	417
	12	1338	1342	1316	1342	1031	1044	1178	1207	411	428

Tabelle 3: Werte für IgA, IgG und IgM von 5 Probanden nach Lagerung bei $+4^{\circ}$ (a) bzw. -20° (b) Serumproteinkonzentrationen in mg/dl

	Lagerungs-dauer in Wochen	1a	1b	2a	2b	3a	3b	4a	4b	5a	5b
Haptoglobin	0	108	106	181	183	480	476	192	197	48	49
	1	102	95	178	164	466	458	199	185	42	45
	2	102	96	166	166	459	467	187	197	41	43
	3	93	96	161	175	441	465	175	189	47	50
	12	95	98	166	171	441	457	178	183	45	47
α_1-Glykoprotein	0	54	55	54	54	183	178	170	171	67	67
	1	48	54	61	57	165	176	165	170	58	66
	2	47	55	60	51	164	179	151	164	65	65
	3	48	54	53	56	179	174	164	169	66	69
	12	49	53	56	57	169	176	161	165	63	65
α_2-Makroglobulin	0	189	191	198	196	187	185	218	225	198	195
	1	187	215	178	196	187	187	225	226	192	198
	2	195	217	195	201	185	195	217	228	195	201
	3	215	209	187	190	178	187	216	230	187	193
	12	201	215	192	198	181	185	215	226	192	198

Tabelle 4: Werte für Haptoglobin, α_1-Glykoprotein und α_2-Makroglobulin von 5 Probanden nach Lagerung bei + 4° (a) bzw. -20° (b)
Serumproteinkonzentrationen in mg/dl

	Lagerungs-dauer in Wochen	1a	1b	2a	2b	3a	3b	4a	4b	5a	5b
Transferrin	0	234	235	314	318	286	291	209	209	222	227
	1	235	234	307	311	302	294	192	204	227	223
	3	224	238	324	318	304	299	193	205	224	238
	12	214	224	314	314	294	291	191	204	225	214
β_1A/C-Globulin	0	85	86	100	102	137	140	71	73	68	68
	1	74	83	88	97	134	139	71	75	68	66
	3	79	85	101	97	140	143	68	78	75	68
	12	78	86	98	105	135	139	70	79	63	70
Coeruloplasmin	0	25	25	67	68	59	60	57	57	45	46
	3	24	26	63	69	58	65	56	58	40	46
	10	23	25	65	69	53	64	51	58	41	44
	12	23	25	68	69	58	63	56	60	45	42
α_1-Antitrypsin	0	201	205	364	370	456	464	308	310	227	229
	10	185	203	351	368	451	469	291	306	218	227
	12	197	206	368	375	452	477	292	313	224	229
	16	197	206	348	357	449	457	310	310	226	236

Tabelle 5: Werte für Transferrin, $\beta_{1A/C}$-Globulin, Coeruloplasmin und α_1-Antritrypsin von 5 Probanden nach Lagerung bei + 4° (a) bzw. -20° (b)
Serumproteinkonzentrationen in mg/dl

	IgA	IgG	IgM	Hapto-globin	α_1-Glyko-protein
Ausgangs-wert bei + 4° (-20°)	154 (157)	1093 (1096)	171 (169)	202 (203)	106 (105)
nach 1 Wo.	141 (147)	1039 (1080)	153 (162)	197 (189)	99 (105)
nach 2 Wo.		1035 (1084)	146 (162)	191 (194)	97 (103)
nach 3 Wo.	141 (145)	1056 (1090)		183 (195)	102 (104)
nach 12 Wo.	142 (156)	1055 (1073)		185 (191)	100 (103)
nach 20 Wo.			151 (163)		

	α_2-Makro-globulin	Trans-ferrin	$\beta_{1A/C}$-Globulin	Coerulo-plasmin	α_1-Anti-trypsin
Ausgangs-wert bei + 4° (-20°)	198 (199)	253 (256)	92 (94)	51 (51)	311 (316)
nach 1 Wo.	194 (204)	253 (253)	87 (92)		
nach 2 Wo.	197 (208)				
nach 3 Wo.	197 (202)	254 (260)	93 (94)	48 (53)	
nach 10 Wo.				47 (52)	299 (315)
nach 12 Wo.	196 (204)	248 (249)	89 (96)	50 (52)	307 (320)
nach 16 Wo.					306 (313)

Tab. 6: Mittelwerte der 5 Probanden für die untersuchten Serumproteine nach Lagerung bei + 4° C (bzw. -20° C)
Lagerungsdauer in Wochen
Serumproteinkonzentrationen in mg/dl

4.3. Mittelwerte der Serumproteine bei HB_s-Ag positiven und HB_s-Ag negativen Probanden

4.3.1. Statistisch signifikante Unterschiede

Wir untersuchten die Serumproteine von 121 HB_s-Ag positiven Personen; als Vergleichskollektiv diente uns eine Gruppe von 101 HB_s-Ag negativen Blutspendern. Wir ermittelten bei beiden Gruppen die Mittelwerte und Standardabweichungen für die 10 Serumproteine und stellten mit Hilfe des U-Tests statistisch signifikante Unterschiede bei 5 der untersuchten Proteine fest.

	HB_s-Ag pos. (n=121)			HB_s-Ag neg. (n=101)			U-Test $2p \geq$
	MW	$\pm$	s	MW	$\pm$	s	
IgA	249	$\pm$	128	233	$\pm$	109	-
IgG	1817	$\pm$	567	1399	$\pm$	434	1 %
IgM	175	$\pm$	84	199	$\pm$	85	5 %
Transferrin	318	$\pm$	120	304	$\pm$	71	-
Coeruloplasmin	41	$\pm$	16	35	$\pm$	16	1 %
$\beta_{1A/C}$Globulin	99	$\pm$	31	90	$\pm$	23	-
Haptoglobin	179	$\pm$	79	184	$\pm$	83	-
α_2-Makroglob.	323	$\pm$	111	215	$\pm$	93	1 %
α_1-Glykoprot.	95	$\pm$	32	90	$\pm$	26	-
α_1-Antitrypsin	228	$\pm$	103	174	$\pm$	92	1 %

Tabelle 7: Vergleich der Serumproteine zwischen HB_s-Ag positiven und -negativen (Vergleichskollektiv) Personen.
Angabe der Serumproteine in mg/dl
MW: arithmet. Mittelwert; s: Standardabweichung; n: Anzahl der Probanden; 2p: Signifikanzprüfung.

Die Tabellen 8 und 9 zeigen eine Gegenüberstellung der Mittelwerte für die 10 von uns untersuchten Serumproteine von HB_s-Ag positiven und -negativen Männern bzw. HB_s-Ag positiven und -negativen Frauen mit den jeweiligen statistisch signifikanten Unterschieden (U-Test).

M ä n n e r

	HB_s-Ag pos. (n=100)		HB_s-Ag neg. (n=78)		U-Test 2 p ≧
	MW ±	s	MW ±	s	
IgA	243 ±	130	238 ±	107	-
IgG	1783 ±	548	1371 ±	421	1 %
IgM	169 ±	83	186 ±	83	-
Transferrin	315 ±	119	305 ±	65	-
Coeruloplasmin	38 ±	14	32 ±	12	5 %
$\beta_{1A/C}$-Globulin	96 ±	30	88 ±	19	-
Haptoglobin	174 ±	81	181 ±	80	-
α_2-Makroglob.	315 ±	105	195 ±	77	1 %
α_1-Glykoprotein	95 ±	32	91 ±	21	-
α_1-Antitrypsin	219 ±	100	157 ±	75	1 %

Tabelle 8: Vergleich der Serumproteine zwischen HB_s-Ag positiven und -negativen Männern.
MW = arithmet. Mittelwert
s = Standardabweichung
2p = Signifikanzprüfung (U-Test)
n = Anzahl der Probanden

F r a u e n

	HB_s-Ag pos. (n=21)	HB_s-Ag neg. (n=23)	U-Test 2p ≧
	MW ± s	MW ± s	
IgA	278 ± 118	220 ± 115	5 %
IgG	1978 ± 636	1495 ± 471	1 %
IgM	204 ± 87	243 ± 75	-
Transferrin	336 ± 127	299 ± 91	-
Coeruloplasmin	56 ± 16	44 ± 23	5 %
$\beta_{1A/C}$-Globulin	110 ± 33	96 ± 31	-
Haptoglobin	206 ± 65	194 ± 93	-
α_2-Makroglob.	360 ± 133	283 ± 109	5 %
α_1-Glykoprot.	95 ± 30	88 ± 39	-
α_1-Antitrypsin	273 ± 111	231 ± 119	-

Tabelle 9: Vergleich der Serumproteine zwischen HB_s-Ag positiven und -negativen Frauen.
MW = arithmet. Mittelwert
s = Standardabweichung
n = Anzahl der Probanden
2p = Signifikanzprüfung (U-Test).

4.3.2. Histogramme der statistisch signifikanten Unterschiede bei HB_s-Ag positiven und -negativen Personen

Bei IgG, IgM, Coeruloplasmin, α_2-Makroglobulin und α_1-Antitrypsin ergaben sich beim U-Test signifikante Unterschiede zwischen den HB_s-Ag positiven und -negativen Probanden.
Von diesen 5 Serumproteinen stellten wir Histogramme her (siehe Abbildung 3 und 4).

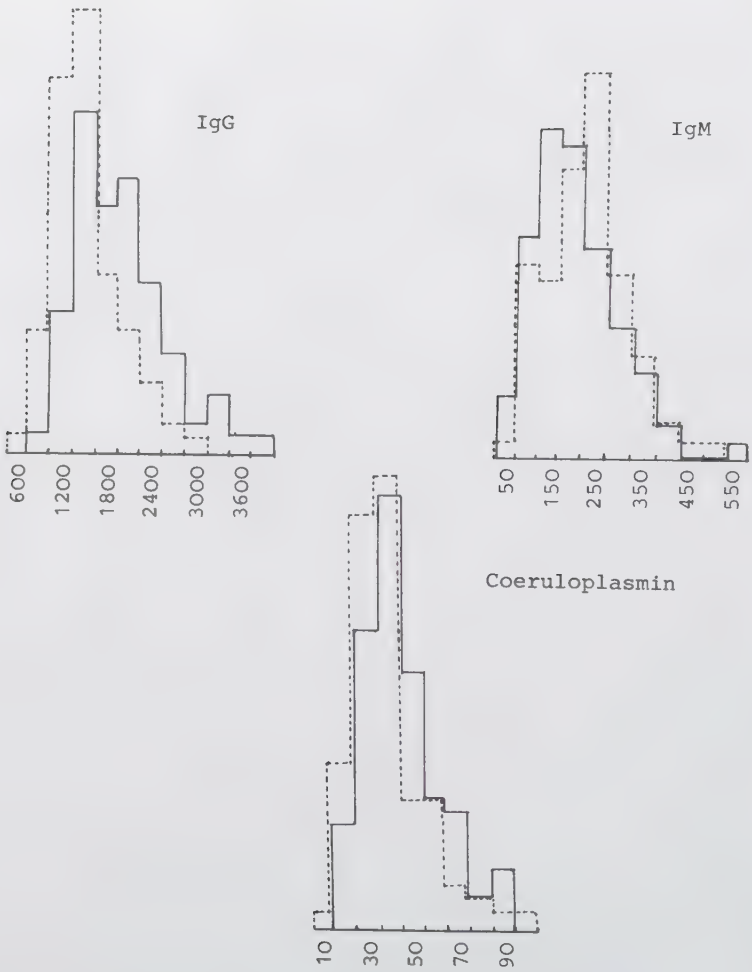
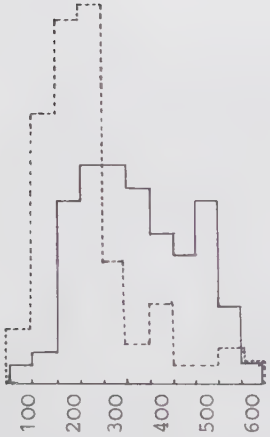
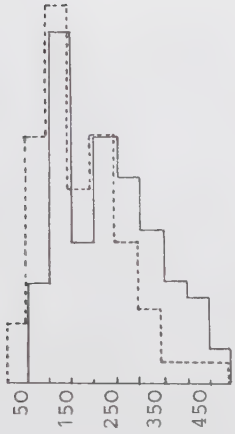


Abb. 3: Histogramme der statistisch signifikanten Unterschiede zwischen HB_s-Ag positiven (———) und HB_s-Ag negativen (-----) Personen bei den Serumproteinen IgG, IgM und Coeruloplasmin. Konzentrationen in mg/dl



α_2-Makroglobulin



α_1-Antitrypsin

Abb. 4: Histogramme der statistisch signifikanten Unterschiede zwischen HB_s-Ag positiven (———) und HB_s-Ag negativen (-----) Personen bei den Serumproteinen α_2-Makroglobulin und α_1-Antitrypsin.
Konzentrationen in mg/dl.

4.4. Mittelwerte der Serumproteine bei Probanden mit HB_s-Ag≤12 µg/ml und HB_s-Ag>12 µg/ml

4.4.1. Statistisch signifikante Unterschiede

Die Gruppe der HB_s-Ag positiven Personen wurde in zwei Untergruppen geteilt, die eine mit einem HB_s-Ag von weniger oder gleich 12 µg/ml und die andere mit einem HB_s-Ag von mehr als 12 µg/ml.
Von beiden Kollektiven ermittelten wir die Mittelwerte der von uns untersuchten 10 Serumproteine; mit Hilfe des U-Tests stellten wir statistisch signifikante Unterschiede fest (siehe Tabelle 10).

	HB_s-Ag≤12 µg/ml (n = 41)			HB_s-Ag>12 µg/ml (n = 43)			U-Test 2p≥
	MW	±	s	MW	±	s	
IgA	246	±	130	220	±	117	-
IgG	1945	±	630	1847	±	598	-
IgM	199	±	88	172	±	79	-
Transferrin	291	±	116	301	±	109	-
Coeruloplasmin	40	±	17	38	±	15	-
$\beta_{1A/C}$-Globulin	91	±	29	93	±	28	-
Haptoglobin	205	±	82	166	±	67	5 %
α_2-Makroglobulin	321	±	122	292	±	98	-
α_1-Glykoprotein	105	±	39	92	±	23	-
α_1-Antitrypsin	191	±	93	203	±	101	-

Tabelle 10: Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (s) der Serumproteine von Personen mit einem HB_s-Ag von weniger bzw. mehr als 12 µg/ml. Konzentrationen der Serumproteine in mg/dl
n = Anzahl der Probanden

4.4.2. Histogramme der statistisch signifikanten Unterschiede

Wie aus Tabelle 10 hervorgeht, konnten nur beim Haptoglobin statistisch signifikante Unterschiede zwischen Personen mit einem HB_s-Ag$\leq$12 µg/ml und Personen mit einem HB_s-Ag$>$12 µg/ml gefunden werden.
Diese Unterschiede haben wir im folgenden Histogramm (Abb. 5) dargestellt.

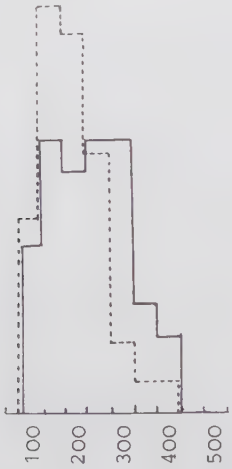


Abb. 5: Histogramm der statistisch signifikanten Unterschiede von Haptoglobin-Konzentrationen (in mg/dl) bei Personen mit HB_s-Ag$\leq$12 µg/ml (———) und Personen mit HB_s-Ag$>$12 µg/ml (-----).

4.4.3. Korrelationen zwischen der Höhe des quantitativen HB_s-Ag und den verschiedenen Serumproteinen

Zuletzt gingen wir noch der Frage nach, ob die Konzentrationen der 10 untersuchten Serumproteine in direktem Zusammenhang zu der Höhe des quantitativen HB_s-Ag stehen.
Wir mußten dabei aber feststellen, daß auch bei hohem HB_s-Ag niedrige Serumproteinwerte und umgekehrt bei geringem HB_s-Ag hohe Serumproteinkonzentrationen zu finden waren.
Dieses soll am Beispiel des α_1-Antitrypsins in der Abbildung 6 dargestellt werden.

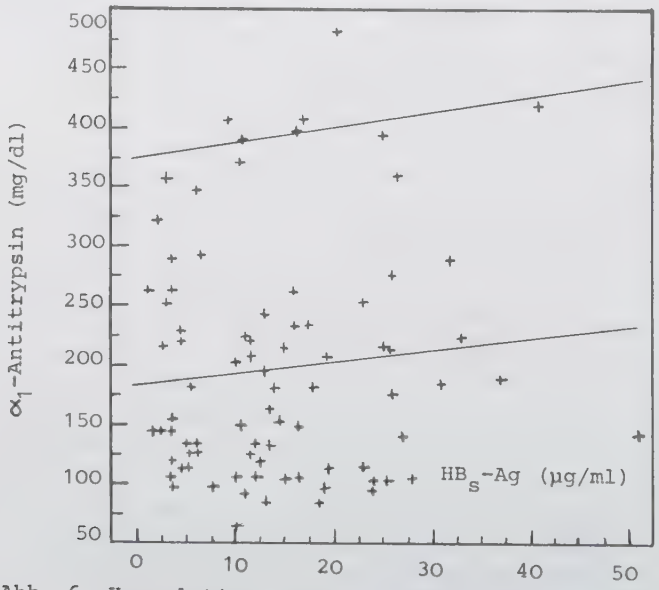


Abb. 6: Korrelation zwischen der Höhe des HB_s-Ags (in µg/ml) und der Konzentration des α_1-Antitrypsins (in mg/dl).

5. DISKUSSION

Ein positiver HB_s-Ag-Befund bei Personen, die nie eine Gelbsucht in ihrer Anamnese hatten und deren klinisch-chemische Befunde - insbesondere die Transaminasenwerte - nicht erhöht sind, wird heute als isolierte, virusinduzierte Immuntoleranz gegenüber dem HB_s-Ag interpretiert, während diese "gesunden" HB_s-Ag-Träger aber gegenüber den anderen HBV-Komponenten (HB_c-Ag und HB_e-Ag) normale humorale Reaktionen zeigen (30 b).
Wie aus histologischen Untersuchungen bekannt ist (30 a), wird das HB_s-Ag-Protein, das im Überschuß in der Leber produziert wird, im glatten endoplasmatischen Retikulum der Leberzellen gespeichert (Milchglaszellen). Die Steuerung dieser Überschußproduktion ist nicht bekannt, wahrscheinlich kommt der Überschuß aber auch durch eine Eliminationsschwäche des Organismus für das HB_s-Ag zustande.

Bisher liegt in der Literatur keine einzige Angabe über die Werte von verschiedenen Proteinen bei HB_s-Ag-Trägern vor, insbesondere nicht darüber, ob es zu einer "Entgleisung" der Produktion einzelner Proteine in der Leber kommt.
Vielleicht könnten aber signifikante Veränderungen der Serumproteine bei HB_s-Ag-Trägern im Vergleich zu HB_s-Ag negativen Personen einen Beitrag zu der Interpretation des HB_s-Ag-Carriers liefern.

Aus diesen Überlegungen heraus haben wir bei HB_s-Ag-Trägern 10 verschiedene Serumproteine (IgA, IgG, IgM, Transferrin, $\beta_{1A/C}$- Globulin, α_2-Makroglobulin, Coeruloplasmin, Haptoglobin, α_1-Antitrypsin und saures α_1-Glykoprotein) bestimmt.

Dieses Kollektiv bestand aus insgesamt 121 Blutspendern, von denen 102 in der Medizinischen Poliklinik der Universität Würzburg leberpunktiert worden waren.

Dabei zeigte sich, daß bis auf 6 Probanden, die das Bild einer chronischen Hepatitis boten, bei den HB_s-Ag positiven Blutspendern Normalbefunde oder nur geringe bis mäßige unspezifische, nicht entzündliche Veränderungen der Leber im histologischen Bild anzutreffen waren.

Anamnestisch hatten alle unsere HB_s-Ag positiven Probanden angegeben, nie eine "Gelbsucht" gehabt zu haben. Bemerkenswert war die Tatsache, daß auch gering erhöhte GPT-Werte eng mit entzündlichen Veränderungen der Leber korreliert waren, während die histologisch lebergesunden HB_s-Ag-Träger keine erhöhten GPT-Werte hatten (63 a). Die nicht leberpunktierten HB_s-Ag positiven Personen zeigten ebenfalls normale GPT-Werte, so daß sie als weitgehend lebergesund zu betrachten sind. Das HB_s-Ag persistierte bei sämtlichen Probanden, wie nachfolgende Untersuchungen über 5 Jahre ergaben (HESSE R, persönliche Mitteilung).
Somit sind alle von uns untersuchten Personen dieses Kollektivs als "gesunde" HB_s-Ag-Träger anzusehen.

Als Vergleichsgruppe dienten uns 101 Blutspender des Bayerischen Roten Kreuzes, Institut Würzburg; diese waren ausnahmslos HB_s-Ag negativ; sie gaben an, nie eine Gelbsucht gehabt zu haben. Ebenfalls lagen ihre GPT-Werte im Normbereich.
Das Verhältnis von männlichen zu weiblichen Personen war in beiden Kollektiven etwa gleich, auch bestanden keine größeren Altersunterschiede. Beide Gruppen hatten ihren Wohnsitz im Raum Bayern.

Wir bestimmten die Menge der Serumproteine mit der Methode der radialen Immundiffusion. Dabei lagen die von uns bei der Präzision von Tag zu Tag (n = 5 Tage) mit einem gepoolten Mischserum ermittelten Variationskoeffizienten bei den 10 Serumproteinen zwischen 3,4 und 9,6 %, was für diese Methode als gut zu bezeichnen ist (auch die in neuerer Zeit eingeführten Methoden der Turbimetrie und der Lasernephelometrie zeigen im Vergleich zur radialen Immundiffusion keine besseren VK-Werte).
Die durchgeführten Untersuchungen der Linearitätsbereiche ergaben, daß über den gesamten Meßbereich der Proteine Linearität vorlag.

Da die Serumproben beider Kollektive über einen Zeitraum bis zu 5 Monaten bei -20° C gelagert wurden, mußten wir den methodischen Nachweis führen, daß durch Aufbewahrung von Serum bei -20° die Konzentrationen der Proteine nicht abnehmen.
Unsere entsprechenden Untersuchungen zeigten bei Lagerung über 3 bzw. 5 Monate bei $+ 4^{\circ}$ und bei -20° keine Veränderungen der Proteinmengen.

Beim Vergleich der 10 Serumproteine in beiden Gesamtkollektiven fanden sich bei 5 Proteinen statistisch signifikante Unterschiede, und zwar höhere Werte bei den HB_s-Ag positiven Probanden für Immunglobulin G, Coeruloplasmin, α_2-Makroglobulin und α_1-Antitrypsin, niedrigere für Immunglobulin M.
Die Werte für Immunglobulin A, Transferrin, $\beta_{1A/C}$-Globulin und α_1-Glykoprotein waren bei den HB_s-Ag-Trägern gering höher und für Haptoglobin etwas niedriger im Vergleich zu dem HB_s-Ag negativen Vergleichskollektiv; statistisch signifikante Unterschiede lagen aber bei diesen Proteinen nicht vor.

Auf Grund der kleineren Stichprobenzahl zeigten sich bei den Männern beider Gruppen keine signifikanten Unterschiede für das IgM bei im wesentlichen unveränderten Verhältnissen.
Bei den kleinen Kollektiven der Frauen war auch der Unterschied für das α_1-Antitrypsin nicht signifikant, während erstaunlicherweise das IgA bei den HB_s-Ag positiven Frauen signifikant höher lag.

Die deutlich erhöhten Werte des IgG (die HB_s-Ag positiven Probanden hatten im Mittel etwa 30 % höhere IgG-Mengen), lassen sich wohl am ehesten mit vermehrter Antikörper-Synthese erklären. Da anzunehmen ist, daß die gewöhnlichen "banalen" Infektionserkrankungen und Fremdantigenexpositionen bei beiden Kollektiven nicht wesentlich voneinander differieren, handelt es sich bei den HB_s-Ag positiven Personen wahrscheinlich um Antikörper gegen Antigene des HBV-Virus. Die von uns untersuchten HB_s-Ag-Träger waren alle anti-HB_c positiv, das anti-HB_e war bei den meisten nachweisbar (HESSE R, persönliche Mitteilung).
Nur die frühen Antikörper gegen das HB_c-Ag gehören vorwiegend zur IgM-Klasse, während anti-HB_c zu einem späteren Zeitpunkt vorwiegend oder ausschließlich zur IgG-Klasse gehören (18 a). Damit sind die von uns gefundenen erhöhten IgG-Werte bei HB_s-Ag-Trägern zu erklären.
Unklar bleibt die Frage, ob die bei unseren Untersuchungen aufgetretene IgM-Erniedrigung bei den HB_s-Ag positiven Personen in einem Zusammenhang mit der IgG-Erhöhung steht.

Für die Erhöhung der Coeruloplasmin-Konzentration im Gesamtkollektiv der HB_s-Ag-Träger sowohl bei Männern als auch bei Frauen finden wir derzeit keine plausible Erklärung, denn akute Entzündungen, Infektionserkrankungen oder maligne Prozesse konnten im Rahmen der Leberpunktion und eines 2-tägigen stationären Aufenthaltes in der Medizinischen Poliklinik Würzburg ausgeschlossen werden. Auch lag keine Beeinflussung der Serumproteinwerte durch Medikamente bei beiden untersuchten Kollektiven vor.
Da die Standardabweichung des Coeruloplasmins in beiden Gruppen (HB_s-Ag positive und -negative) und innerhalb der Gesamtkollektive bei Männern wie bei Frauen gleich war, kann auch nicht angenommen werden, daß sich unter den HB_s-Ag positiven Personen eine kleine Gruppe mit sehr hohen Coeruloplasmin-Werten befand.

Die beiden anderen Serumproteine, das α_2-Makroglobulin und das α_1-Antitrypsin, die bei unseren Untersuchungen signifikant höhere Werte bei den HB_s-Ag-Trägern zeigten, gehören ebenso wie das Coeruloplasmin zu den "Akute-Phase-Proteinen", jedoch konnten ja - wie bereits oben angeführt - akute Entzündungen etc. von uns ausgeschlossen werden.

Schließlich hatten wir uns die Frage gestellt, ob die Höhe des quantitativen HB_s-Ag in einem direkten Zusammenhang mit den Serumproteinkonzentrationen steht. Es konnte gezeigt werden, daß die HB_s-Ag-Konzentration nicht ausschlaggebend war für die Serumproteinkonzentration außer beim Haptoglobin, wo bei Personen mit einem HB_s-Ag ≤ 12 µg/ml höhere Haptoglobin-Werte vorlagen als bei den Probanden mit HB_s-Ag > 12 µg/ml.
Eine direkte Korrelation zwischen dem HB_s-Ag und den Haptoglobinwerten konnte aber nicht nachgewiesen werden.

6. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit untersuchten wir das Serum von 121 klinisch gesunden HB_s-Ag-Trägern sowie von 101 HB_s-Ag negativen Blutspendern (Vergleichskollektiv). Bei beiden Gruppen wurden mit der radialen Immundiffusion folgende 10 Serumproteine bestimmt:
IgA, IgG, IgM, Transferrin, $\beta_{1A/C}$-Globulin, α_2-Makroglobulin, Coeruloplasmin, Haptoglobin, α_1-Antitrypsin und saures α_1-Glykoprotein.

Beim Vergleich der 10 Serumproteine in beiden Gesamtkollektiven fanden sich bei 5 Proteinen statistisch signifikante Unterschiede, und zwar höhere Werte bei den HB_s-Ag positiven Probanden für IgG, Coeruloplasmin, α_2-Makroglobulin und α_1-Antitrypsin, niedrigere Werte für IgM.

Bei den Männern beider Gruppen zeigten sich keine signifikanten Unterschiede für das IgM bei im wesentlichen unveränderten Verhältnissen.
Bei den kleinen Kollektiven der Frauen war auch der Unterschied für das α_1-Antitrypsin nicht signifikant, während das IgA bei den HB_s-Ag positiven Frauen signifikant höher lag als bei den HB_s-Ag negativen Frauen.

Eine direkte Korrelation zwischen der Höhe des quantitativen HB_s-Ag und den Serumproteinkonzentrationen konnte nicht festgestellt werden.

7. LITERATURVERZEICHNIS

1. AGOSTINI A, VERGANI C, STABILINI R:
Immunchemische Bestimmung des β_{1A}-Globulins im Serum von Gesunden und Kranken
Z klin Chem 6: 446 (1968)

2. ALMEIDA JD, RUBENSTEIN D, STOTT EJ:
New antigen-antibody system in Australia-antigen positive hepatitis.
Lancet 2: 1224-8 (1971)

3. ALMEIDA JD, WATERSON AP:
The morphology of virus-antibody interaction.
Advan Vir Res 15: 307 (1969)

4. ALMEIDA JD, ZUCKERMAN AJ, TAYLOR PE et al.:
Immune electron microscopy of the Australia-SH-(serum hepatitis)-antigen.
Microbio 2: 117-23 (1969)

5. BANCROFT WH, MUNDON FK, RUSSELL PK:
Detection of additional antigenic determinants of hepatitis B antigen.
J Immunol 109: 842-8 (1972)

6. BAUDER S, BONACKER L:
Immunologische Bestimmungsmethoden
Mitt Dt Ges f klin Chem 4: 3 (1971)

7. BAYER ME, BLUMBERG BS, WERNER B:
Particles associated with Australia antigen in sera of patients with leukemia, Down's syndrome and hepatitis.
Nature (Lond) 218: 1057-9 (1968)

8. BECHHOLD H:
Strukturbildung in Gallerten.
Z physical Chem 52: 185 (1905)

9. BLUMBERG BS:
Polymorphisms of the serum proteins and the development of iso-precipitins in transfused patients.
Bull N Y Acad Med 40: 377-86 (1964

10. BLUMBERG BS, ALTER HJ:
Precipitating antibodies against a serum protein ("Australia antigen") in the serum of transfused hemophilia patients.
J clin Inv 44: 1029 (1965)

11. BLUMBERG BS, GERSTLEY BJS, HUNGERFORD DA et al.:
A serum antigen (Australia antigen) in Down's syndrome, leukemia and hepatitis.
Ann int Med 66: 924-31 (1967)

12. BLUMBERG BS, MELARTIN L, LECHAT M et al.:
Association between lepromatous leprosy and Australia antigen.
Lancet 2: 173-6 (1967)

13. BLUMBERG BS, SUTNICK AI, LONDON WT:
Hepatitis and leukemia: Their relation to Australia antigen.
Bull N Y Acad Med 44: 1566-86 (1968)

14. BLUMBERG BS, SUTNICK AI, LONDON WT:
Australia antigen and hepatitis.
Jama 207: 1895-6 (1969)

15. BRZOSKO WJ, BUDKOWSKA A, KRAWCZYNSKI K et al.:
The "nuclear" specifity of hepatitis B antigen and its antibody in acute and chronic hepatitis.
Proc Symp Etiol Epidemiol of Viral Hepatitis
Erfurt 28-29 IX 1973

16. CARAMIA F, DE BAC C, RICCI G et al.:
Virus-like particles within hepatocytes of Au-antigen carriers.
Am J Dis Child 123: 309 (1972)

17. COYNE VE, MILLMAN I, CERDA J et al.:
The localization of Australia antigen by immunofluorescence.
J exp Med 131: 307-20 (1970)

18. DANE DS, CAMERON CH, BRIGGS M:
Virus-like particles in serum of patients with Australia-antigen-associated hepatitis.
Lancet 1: 695-8 (1970)

18a. DEINHARDT F:
Neue virologische Aspekte der akuten Hepatitis.
IV. Hamburger Med. Symposium, Dez. 1978

19. ERIKSSON S:
Antitrypsin deficiency in chronic obstructive lung disease.
Lancet 1: 981 (1970)

20. FAHEY JL, MC KELVEY EM:
Quantitative determination of serum immunglobulins in antibody-agar plates.
J Immunol 94: 84 (1965)

21. FAY OH, EDWARDS V, MOSLEY J, REDEKER A:
The e-antigen as index of chronic hepatitis B virus infection.
Gastroenterology 68: 1081 (1975)

22. FAY OH, TANNO H, RONCORONI M, FINDER J et al.:
The frequency of the e-antigen in acute and chronic hepatitis.
Leber, Magen, Darm 5, Nr. 4: 140-2 (1975)

23. GÖTZ H:
Immunologische Plasmaprotein-Diagnostik
de Gruyter (1973): a) 191-7
b) 146

24. GRABAR P, WILLIAMS CA:
Biochem Biophys Acta 10: 193 (1953)

25. GROSSMANN HD, HUHNSTOCK K, WANNAGAT L:
Quantitative Verteilung der Immunglobuline bei Lebererkrankungen.
Verh. dtsch Ges inn Med 73: 237 (1967)

26. GYORKEY F, MIN KW, GYORKEY P et al.:
Cytoplasmic localization of hepatitis B surface (viral coat) antigen (HB_s-Ag) by electron microscopy.
N Engl J Med 290: 1488 (1974)

27. HUANG SN:
Hepatitis associated antigen: an electron microscopic study of virus-like particles in liver cells.
Am J Pathol 64: 483-500 (1971)

28. JOZWIAK W, KOSCIELAK J, MADALINSKI K et al.:
RNA of Australia antigen.
Nature (New Biol.) 229: 92-4 (1971)

29. KIM CY:
Hepatitis associated antigen. Its biophysical properties and nucleic acid.
Vox Sang 20: 461-2 (1971)

30. KIM CH, TILLERS JG:
Immunologic and electrophoretic heterogenity of hepatitis associated antigen.
J Infect Dis 123: 618-28 (1971)

30a. KLINGE O, KABOTH U, WINCKLER K:
Feingewebliche Befunde an der Leber klinisch gesunder Australia-Antigen- (HB-Ag-) Träger.
Virchows Arch A 361: 359-68 (1973)

30 b. KNOLLE J, BORN M, HESS G, KLINGE C, ARNOLD W et al.:
Die Charakterisierung des klinisch gesunden Hepatitis-B-Antigen (HB_s-Ag)-Trägers.
Klin Wschr 54: 567-78 (1976)

31. KRAUS R:
Ueber specifische Reactionen in keimfreien Filtraten aus Cholera-, Typhus- und Pestbouillonculturen, erzeugt durch homologes Serum.
Wien klin Wschr 10: 736 (1897)

32. LAURELL CB:
Quantitative estimation of proteins by electrophoresis in agarose gel containing antibodies.
Analyt Biochem 15: 45 (1966)

33. LAURELL CB, ERIKSSON S:
The electrophoretic α_1-globulin pattern of serum in α_1-antitrypsin deficiency.
Scand J clin Lab Invest 15: 132 (1963)

34. LE BOUVIER GL:
Heterogenity of the Australia antigen.
J Infect Dis 123: 671-5 (1971)

35. LEVENE C, BLUMBERG BS:
Additional specifities of Australia antigen and the possible identification of hepatitis carriers.
Nature (Lond) 221: 196 (1969)

36. LONDON WT, SUTNICK AI, BLUMBERG BS:
Australia antigen and acute viral hepatitis.
Ann Int Med 70: 55-9 (1969)

37. MAGNIUS LO:
Characterisation of a new antigen-antibody-system associated with hepatitis B.
Clin exp Immunol 20: 209 (1975)

38. MAGNIUS LO, ESPMARK JA:
New specifities in Australia antigen positive sera distinct from the Le Bouvier determinants.
J Immunol 109: 1017-21 (1972)

39. MANCINI G, CARBONARA AO, HEREMANS JF:
Immunochemical quantation of antigen by single radial immunodiffusion.
Immunochemistry 2: 235 (1965)

40. MILLMAN I, LONDON WT, SUTNICK AI et al.:
Australia antigen-antibody complexes.
Nature (Lond) 226: 83-4 (1970)

41. MILLMAN I, ZAVATONE V, GERSTLEY BJS et al.:
Australia antigen detected in the nuclei of liver cells of patients with viral hepatitis by fluorescent antibody technique.
Nature (Lond) 222: 181 (1969)

42. MÜLLER HE:
Quantitative immunologische Bestimmungen, Gelfiltrations-analysen und Immunelektrophoresen bei Paraproteinosen.
Z Immun Forsch 133: 357 (1967)

43. MÜLLER HE, MÜLLER-VON VOIGT I:
Quantitative immunologische Serumproteinbestimmungen bei verschiedenen Krankheitszuständen.
Dtsch med Wschr 93: 216 (1968)

44. MUELLER-ECKHARDT C, KRETSCHMAR G:
Untersuchung zur Bedeutung des $beta_1C$- $beta_1A$-Gehaltes im Serum von Patienten mit sogenannter "lupoider" Hepatitis.
Klin Wschr 48: 491 (1970)

45. NELSON JM, BARKER LF, DANOVITCH SH:
Intranuclear aggregates in the liver of a patient with serumhepatitis.
Lancet 1: 773 (1970)

46. NIELSEN JO, DIETRICHSON O:
Incidence and meaning of the "e" determinant among hepatitis-B-antigen positive patients with acute and chronic liver diseases.
Lancet 2: 913 (1974)

47. NORKRANS G, MAGNIUS L , IWARSON S:
e-antigen in acute hepatitis B.
Brit med J 1: 740 (1976)

48. NOWOSLAWSKI A, BRZOSKO WJ, MADALINSKI K et al.:
Cellular localisation of Australia antigen in the liver of patients with lymphoproliferative disorders.
Lancet 1: 494-8 (1970)

49. OKADA K, KAMIYAMA MD, INOMATA M et al.:
e-antigen and anti-e in the serum of asymptomatic carrier mothers as indicators of positive and negative transmission of hepatitis B virus to their infants.
N Engl J Med 294: 746-9 (1976)

50. OKOCHI K:
Ag (x,y) in Japanese and preliminary report on an isoprecipitin.
J Jap Soc Blood Trans 14: 151 (1967)

51. OKOCHI K, MURAKAMI S:
Observations on Australia antigen in Japanese.
Vox Sang 15: 374-85 (1968)

52. OUCHTERLONY Ö:
Antigen-antibody reactions in gels.
Acta Pathol Microbiol Scand 26: 516 (1949)

53. OUDIN J:
Compt Rend Acad Sci Paris 228: 1890 (1949)

54. PESENDORFER F, KRASSNITZKY O, WEWALKA F:
Immunelektrophoretischer Nachweis von "hepatitis associated antigen" (Au/SH Antigen).
Klin Wschr 48: 58-9

55. POPPER H, MACKAY IR:
Relation between Australia antigen and autoimmune hepatitis.
Lancet 2: 1161-63 (1972)

56. PRINCE AM:
An antigen detected in the blood during the incubation period of serum hepatitis.
Proc Nat Acad Sci 60: 814 (1968)

57. PRINCE AM:
Relation of Australia and SH antigens.
Lancet 2: 462 (1968)

58. SCHOBER A, THOMSSEN R, KABOTH U:
Serologische Subtypen des Hepatitis-B-Antigens (Australia-Antigen).
Hyg Inst und Med Klinik der Uni Göttingen, 1972

59. SCHOBER A, THOMSSEN R:
Natur und Nachweis des Hepatitis B- (Australia)-Antigens und seines Antikörpers.
Dtsch Med Wschr 14: 546-53 (1973)

60. SEIDL S, PADE K, KALTSCHMID O:
Der Nachweis von Hepatitis B-Antigen bei Blutspendern durch die passive Haemagglutination.
Klin Wschr 52: 599-601 (1974)

61. SUTNICK AI, LEVINE PH, LONDON WT et al.:
Frequency of Australia antigen in patients with leukemia in different countries.
Lancet 1: 1200-2 (1971)

62. SUTNICK AI, LONDON WT, BAYER M et al.:
Hepatitis and Australia antigen in Down's syndrome.
Gastroenterology 54: 1275 (1968)

63. VYAS GN, SHULMAN NR:
Hemagglutination assay for antigen and antibody associated with viral hepatitis.
Science 170: 332-3 (1970)

63a. WEISSHAAR D:
Klinisch gesunde HB_s(Australia)-Antigen-Träger
Epidemiologische, klinisch-chemische und genetische Untersuchungen mit histologischer Kontrolle.
Habilitationsschrift, Universität Würzburg 1975.

64. WILDING P, ADHAM NF, MEHL JW, HAVERBACK BJ:
$Alpha_2$-macroglobulin concentrations in human serum.
Nature (London) 214: 1226 (1967)

65. YASUZUMI G, TSUBO I, OKADA K et al.:
The fine structure of nuclei as revealed by electron microscopy. V. Intranuclear inclusion bodies in hepatic parenchymal cells in cases of serum hepatitis.
J Ultrastruct Res 23: 321 (1968)

66. ZUCKERMAN AJ:
Viral hepatitis and the Australia SH-antigen.
Nature 233: 569 (1969)

67. Tabelle der Proteine des menschlichen Blutplasmas, Behringwerke, Sonderdruck der Firma Behring Frankfurt/M.

68. CENTER FOR DISEASE CONTROL
Nomenclature of antigens associated with viral hepatitis, type B.
Morbidity and Mortality Weekly Report 23: 29 (1974)

Entsprechend den Empfehlungen des amerikanischen Commitee on Viral Hepatitis of the National Academy of Sciences (68) verwandten wir in dieser Arbeit folgende Abkürzungen:

HB_s-Ag	:	Hepatitis-B-Mantel (surface)-Antigen
HB_c-Ag	:	Hepatitis-B-Kern (core)-Antigen
HB_e-Ag	:	Hepatitis-B-Virus assoziiertes e-Antigen
Anti-HB_s	:	Antikörper gegen HB_s-Ag
Anti-HB_c	:	Antikörper gegen HB_c-Ag
Anti-HB_e	:	Antikörper gegen HB_e-Ag
HB	:	Virushepatitis Typ B
HBV	:	Hepatitis-Virus Typ B

Herrn Prof. Dr. H. Franke danke ich für die mir an seiner Klinik gebotene Arbeitsmöglichkeit.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Priv.Doz. Dr.med. D. Weißhaar, der mir im Auftrag von Prof. Dr. H. Franke das Thema zur Bearbeitung überlassen hat. Er war stets bemüht, mich bei der Durchführung der Arbeit tatkräftig zu unterstützen.

Frau Dr. rer. nat. I. Haubitz vom Rechenzentrum der Universität Würzburg danken wir für die freundliche Unterstützung bei der Erstellung der Rechenprogramme und Durchführung der statistischen Auswertung.

Herrn Chefarzt Dr. A. Gathof und Frau Dr. E. Gossrau vom Blutspendedienst des Bayerischen Roten Kreuzes in Würzburg danke ich für die Zusammenarbeit bei der Auswahl der Blutspender.

Lebenslauf

Am 13.3.1952 wurde ich als älteste Tochter des Arztes Dr.med. Karl Müller und seiner Ehefrau Hannelore, geborene Boebers, in Arnstadt/Thüringen geboren.

Von 1958 bis 1962 besuchte ich die Grundschule in Arnstadt, Friedberg/Hessen und Bad Mergentheim. 1962 wechselte ich auf das Deutschordens-Gymnasium in Bad Mergentheim über, wo ich 1970 die Reifeprüfung ablegte.

Zunächst studierte ich zwei Semester Französisch und Russisch. Mein Medizinstudium begann ich dann im Wintersemester 1971/72 an der Universität Freiburg und setzte es nach der ärztlichen Vorprüfung (März 1974) in Würzburg fort. Meine praktische Ausbildung erfolgte am Krankenhausverbund Bad Mergentheim. Im Oktober 1978 legte ich in Heidelberg den 3. Teil der ärztlichen Prüfung ab.

Seit Januar 1979 arbeite ich an der Stoffwechselklinik Bad Mergentheim.

Ich bin seit Juli 1976 mit dem Ballettmeister Peter Mader verheiratet; im Dezember 1979 wurde unser erstes Kind geboren.

Gudrun Mader

Andreas Staudenraus Druckerei GmbH Münzstraße 4 8700 Würzburg